PREVALENCIA DE NOROVIRUS COMO AGENTE ETIOLÓGICO DE GASTROENTERITIS EN NIÑOS VENEZOLANOS

Fabiano F, Suárez J, Calvo A, Naranjo L.

Aprobado para publicación mayo 2011. Publicado abril 2012

RESUMEN:
Las gastroenteritis representan una causa importante de morbimortalidad en el mundo y en Venezuela. Su etiología en infantes es principalmente viral, encontrando a los Norovirus como agentes asociados. Considerando la escasa documentación al respecto, se realizó este estudio para evaluar la prevalencia de Norovirus en niños de 0 a 10 años con diarrea aguda que acudieron a la Policlínica Metropolitana en Caracas; verificando su asociación con otros factores etiológicos y demográficos. 102 muestras fecales fueron sometidas al análisis bacteriológico, parasitológico y viral, utilizando para la detección de Norovirus un ensayo ELISA RIDASCREEN® Norwalk-like-Virus. El análisis estadístico incluyó los índices O.R, y Chi-Cuadrado para analizar las frecuencias de los agentes etiológicos, permitiendo además verificar si la diarrea por Norovirus era independiente de otros patógenos, del sexo y grupos etareos. Se utilizó Excel y el paquete estadístico SPSS 1.0. Los resultados sugirieron que el riesgo de diarrea por Norovirus se sextuplicó en los niños de 1-2 años en comparación con los mayores a 5 años (O.R 5,8842 p:0,0070; x210,879 p:0,012). En los casos positivos, la prevalencia de Norovirus fue del 68,9%, y 30% de ellos presentó coinfección con otros patógenos, pero la asociación no fue significativa (p>0,05). Considerando los casos de diarrea que quedan sin diagnosticar, sería lógico pensar que Norovirus circularía con una alta frecuencia en Venezuela, ya que la prevalencia fue superior a la reportada en otras poblaciones (39,2% vs 5-33%). El impacto de las infecciones por Norovirus en Venezuela se desconoce completamente y debe ser estudiado con mayor profundidad.

Palabras claves: Gestión de la Calidad, Lista de Verificación, Documentación.

PREVALENCE OF NOROVIRUS LIKE GASTROENTERITIS ETIOLOGIC AGENT IN VENEZUELAN CHILDREN

SUMMARY
Gastroenteritis is a very important cause of mobility and mortality in Venezuela and the rest of the World. Their etiology on children is mainly caused by viruses, including Norovirus. Considering the lack of related documentation in Venezuela, we performed a study in order to calculate the prevalence of Norovirus on children between 0 to 10 years old, with acute diarrhea treated on the Policlinica Metropolitana, Caracas; also we analyzed his association with other etiological and demographic factors. 102 stool samples were tested for bacteria parasitic and viruses. For Norovirus we used the ELISA RIDASCREEN® Norwalk-like-Virus, (r-biopharm, Germany). The statistical calculations included O.R. and Chi Square ratios, in order to analyze the frequency of the different etiological agents and also to verify if the diarrheas for Norovirus were independent from other pathogenic agents, sex or age groups. We used Excel ® and SPSS ® 1.0 software for statistical calculations. The results suggested that that the risk of getting a diarrhea caused for Norovirus was 6 times higher on children from 1 to 2 years old than those older that five years old. (O.R 5,8842 p:0,0070; x210,879 p:0,012). The prevalence for Norovirus was 68,9%, and 30% of them presented simultaneous infection with other pathogenic agents, but this association wasn't significative (p>0,05). Considering the high number of diarrhea cases that lack of a proper etiological diagnostic, it's possible that the Norovirus are circulating with a high frequency in Venezuela, due the prevalence reported on this study is above the reported in other population studies (39,2% vs 5-33%). The actual impact of Norovirus in Venezuela is still unknown and must be study with more detail.

Key words: Prevalence, norovirus, diarrhea, gastroenteritis.

Solicitar copia a: Fabiola Fabiano
[1]Laboratorio Metropolitano. Policlínica Metropolitana. Caracas-Venezuela.

Introducción

Las gastroenteritis representan una causa importante de morbimortalidad en el mundo, especialmente en países en desarrollo (1). Los niños y ancianos constituyen los grupos más susceptibles a estas enfermedades. En Venezuela se estima que anualmente ocurren aproximadamente 1,32 millones de casos de diarrea (2), representando en los últimos años la novena causa de muerte en la población general y la segunda en menores de 4 años (3), considerándose así como uno de los principales problemas de salud pública en nuestro país.

La mayoría de las diarreas infecciosas en niños son de etiología viral, encontrando a los Rotavirus, Adenovirus, Astrovirus y Calicivirus como agentes asociados a estos cuadros. Investigaciones recientes han sugerido que los Calicivirus juegan un papel en salud pública mucho más importante de lo que inicialmente se sospechaba.

Esta familia de virus se caracteriza por una gran diversidad antigénica y genética, y se encuentra conformada por cuatro géneros:

Vesivirus, Lagovirus, Norovirus (antiguamente llamado Norwalk-like-virus) y Sapovirus (antiguamente llamado Sapporo-like-virus). Debido a que las relaciones antigénicas entre los Calicivirus permanecen aún poco claras, la mayoría de ellos han sido denominados según la localidad geográfica de su primer descubrimiento.

Así el prototipo de virus Norwalk debe su nomenclatura a los hallazgos correspondientes a un brote de gastroenteritis aguda en 1968 en una escuela de Norwalk Ohio, Estados Unidos (4). Con el progreso de las técnicas moleculares hoy se sabe que es un virus pequeño, redondeado, con un genoma de ARN de cadena simple y sentido positivo.

Actualmente se considera a los Norovirus como principales agentes virales asociados a brotes de diarrea en humanos, y se perfilan como causa importante de diarreas endémicas (1,5). Estudios hechos en países desarrollados y en desarrollo estiman que entre el 20% y el 30% de las gastroenteritis infantiles son causadas por Norovirus (6). Los síntomas asociados a este cuadro clínico incluyen vómitos, diarrea acuosa no sanguinolenta, dolor abdominal, fiebre y náuseas, con un período de incubación entre 1 y 4 días. Generalmente la recuperación es completa y sin complicaciones. Las muertes asociadas a este tipo de infecciones son infrecuentes, aunque se han descrito algunos casos en ancianos.

Considerando estos hallazgos, y conociendo que hasta el momento la documentación existente en nuestro país en el área es limitada, se realizó este estudio con el fin de evaluar la prevalencia de Norovirus en una población de niños venezolanos de 0 a 10 años afectados con diarrea aguda que acudieron al servicio de Emergencia de la Policlínica Metropolitana en Caracas, Venezuela; así como verificar si existe asociación significativa con otros agentes etiológicos y ciertos factores demográficos.

Materiales y Métodos

Población en estudio

Se analizaron un total de 102 muestras fecales provenientes de individuos de edades inferiores a 10 años, ambos sexos (48 femeninos, 54 masculinos), no relacionados entre sí, con un cuadro de diarrea aguda de evolución no superior a 72 horas, sin antibioticoterapia durante las primeras cuatro semanas anteriores al episodio, sin desnutrición ni alteraciones congénitas.

Se definió el cuadro de diarrea aguda como la presencia de tres evacuaciones líquidas o semilíquidas, o una evacuación de consistencia alterada y/o sanguinolenta en 24 horas.

Luego de informar al representante del niño de los objetivos del estudio y obtener su consentimiento, se registraron los datos al momento del ingreso a la Emergencia de la Policlínica: Edad, sexo, procedencia, fecha de consulta, fecha de inicio de los síntomas e ingesta de alimentos previos al episodio. En la historia clínica del paciente se incluyeron las manifestaciones clínicas (fiebre, vómitos, número de evacuaciones, dolor abdominal, fiebre, cefalea, deshidratación) y las características de las evacuaciones (consistencia, presencia de sangre y/o moco).

Procesamiento de las muestras

Las muestras fueron obtenidas por emisión espontánea o mediante el uso de cucharillas rectales, y transportadas bajo condiciones apropiadas al laboratorio7. La conservación se realizó en medio de Cary Blair para el estudio bacteriológico; a temperatura ambiente durante un período no mayor a 1 hora para el estudio parasitológico, y no mayor a 5 horas para el estudio viral. Se realizó el estudio parasitológico, bacteriológico y viral (Adenovirus, Rotavirus y

Norovirus) para cada una de ellas. Los métodos de diagnóstico para la detección de parásitos intestinales incluyeron examen macroscópico de las heces y examen microscópico por el método directo (7).

Para el estudio bacteriológico, las muestras fueron sembradas en agar MacConkey, agar Levine, agar Salmonella-Shigella, agar de xilosa-lisina-desoxicolato, caldo Selenito y agar Preston suplementado con cefoperazona para la investigación de Campylobacter. Los microorganismos aislados fueron identificados por métodos estandarizados (8).

La detección de Rotavirus y Adenovirus se realizó utilizando el ensayo rápido RIDA®Quick Rotavirus/Adenovirus (r-biopharm) (9). La metodología utilizada para la detección de Norovirus incluyó un ensayo inmunoenzimático tipo ELISA RIDASCREEN® Norwalk-like-Virus (r-biopharm AG Germany) que permitió bajo condiciones apropiadas, el diagnóstico in vitro mediante la identificación cualitativa de los virus Norwalk-like del genogrupo I y II (10).

Análisis estadístico

Se realizó un estudio descriptivo de las variables en estudio y se obtuvieron los índices de Odd Ratio (O.R) para cada caso. Se aplicó la prueba de Chi-Cuadrado a fin de realizar el análisis comparativo de las frecuencias de los agentes etiológicos. Igualmente, la prueba estadística permitió verificar si la diarrea por Norovirus fue independiente de la presencia de otros agentes patógenos, del sexo y de los grupos etareos en la población estudiada, para un intervalo de confianza del 95%.

Se utilizó Excel y el paquete estadístico SPSS versión 1.0 para crear la base de datos correspondiente y se ejecutaron los procedimientos estadísticos para su posterior análisis. Serán excluidos del análisis de O.R y Chi-Cuadrado aquellos individuos cuyo resultado de Norovirus fue indeterminado.

Resultados

Características de la población estudiada

La distribución de los individuos por grupos etareos se resume en la Tabla 1, utilizando el grupo de 5-<10 años como punto de comparación. Al evaluar los O.R y su respectiva significación, se obtiene específicamente que el riesgo de diarrea por Norovirus casi se sextuplica en la subpoblación de niños con edades comprendidas entre 1 y 2 años en comparación a la subpoblación de niños con edades superiores a 5 años, siendo estos resultados estadísticamente significativos (p<0,05)

Tabla 1. Edades de la población infantil estudiada y valores O.R de la presencia de Norovirus en diarrea aguda. Servicio de Emergencia de la Policlínica Metropolitana. Caracas, Venezuela.

Grupo etareo (años)	Casos (n)	Porcentaje (%)	O.R	p-valor
0 - < 1	12	1,8	4.3590	0.0510
1 - < 2	39	38,2	5.8842	0.0070
2 - < 5	21	20,6	1.2260	0.6922
5 - < 10	30	29,4		
Total	102	100		

Al aplicar la prueba de Chi-Cuadrado para contrastar la independencia entre la presencia de Norovirus y factores demográficos, se obtuvo en relación al sexo, que aún cuando los varones predominaron sobre las hembras, los grupos no presentaron diferencias estadísticamente significativas respecto a la presencia del virus como agente etiológico de diarrea aguda (p>0,05). Por el contrario, sí se presentaron diferencias significativas en relación a la edad del individuo (p<0,05), tal como se evidencia en la Tabla 2.

Tabla 2. Valores de Chi-Cuadrado de la presencia de Norovirus en niños afectados con diarrea aguda según su asociación a factores demográficos. Servicio de Emergencia de la Policlínica Metropolitana.Caracas, Venezuela.

Factor	c2	p-valor
Sexo	2,002	0,157
Edad	10,879	0,012

Frecuencia de los agentes etiológicos

En una elevada proporción de los casos (54,9%) no se identificó ningún agente patógeno. La frecuencia de Norovirus para el total de muestras analizadas se determinó tanto de forma absoluta como porcentual, tal como se muestra en la Tabla 3 y la Figura 1.

Tabla 3. Frecuencia de Norovirus en niños afectados con diarrea aguda. Servicio de Emergencia de la Policlínica Metropolitana. Caracas, Venezuela.

Norovirus	Casos (n)	Porcentaje (%)
Positivo	40	39,2
Negativo	56	54,9
Indeterminado	6	5,9
Total	102	100

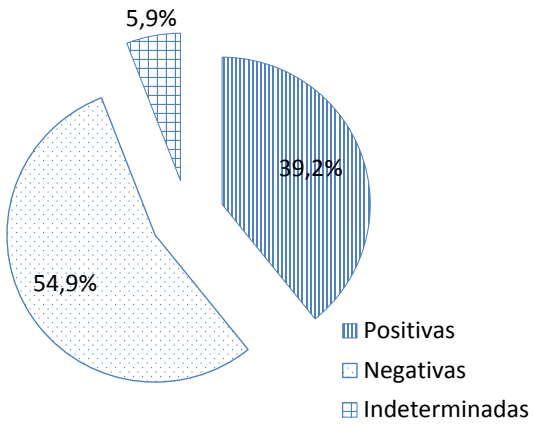


Figura 1. Distribución de la frecuencia de Norovirus en niños afectados con diarrea aguda. Servicio de Emergencia de la Policlínica Metropolitana. Caracas, Venezuela.

Los agentes etiológicos detectados con mayor frecuencia en niños afectados con diarrea aguda fueron Norovirus (68,9%), seguidos de Rotavirus (20,7%), Shigella sonei (10,3%), Shigella flexneri (6,9%), Salmonella species (5,2%), Campylobacter laridis (5,2%). Los parásitos enteropatógenos desempeñaron un papel poco importante como causa de diarrea: Blastocystis hominis (6,9%), Giardia duodenalis (1,7%). Adenovirus entérico igualmente presentó poca importancia (1,7%) (Figura 2).

De las 40 muestras positivas para Norovirus, el 30% presentó coinfección con otros patógenos (Tabla 4), sin embargo la asociación no fue estadísticamente significativa (p>0,05). Norovirus fue aislado como único agente etiológico en el 56,5% de los casos, tal como se muestra en el Figura 3.

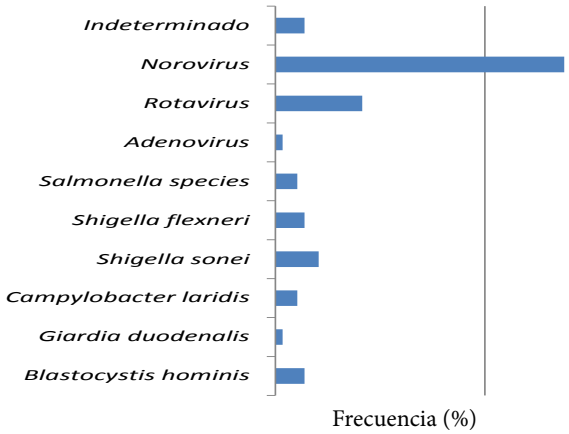


Figura 2. Frecuencia de los agentes etiológicos en diarrea aguda. Servicio de Emergencia de la Policlínica Metropolitana. Caracas, Venezuela.

Tabla 4. Coinfección de Norovirus y otros patógenos en niños con diarrea aguda. Servicio de Emergencia de la Policlínica Metropolitana. Caracas, Venezuela.

Clasificación de coinfección	Casos (n)
Norovirus-Rotavirus	4
Norovirus-Shigella sonei	4
Norovirus-Shigella flexneri	1
Norovirus-Campylobacter laridis	1
Norovirus-Salmonella species	2
Norovirus-Shigella sonei-Rotavirus	1
Norovirus-Salmonella species-Shigella sonei	1
Total de casos	14

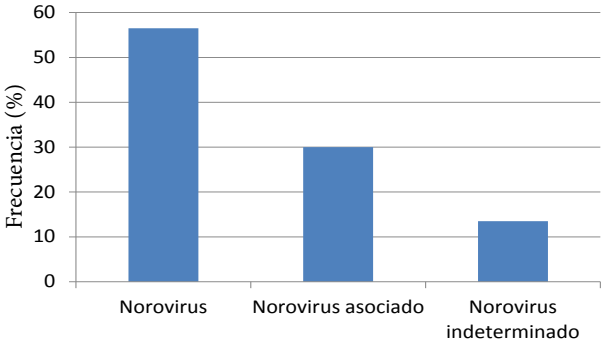


Figura 3. Distribución de la frecuencia de Norovirus en niños con diarrea aguda. Servicio de Emergencia de la Policlínica Metropolitana. Caracas, Venezuela.

Al comparar la frecuencia de Rotavirus, Adenovirus, bacterias y parásitos enteropatógenos como agentes etiológicos de diarrea aguda, se observó que no hubo diferencias estadísticamente significativas, según se evidencia en la Tabla 5.

Tabla 5. Valores de O.R y Chi-Cuadrado de la presencia de Norovirus en niños con diarrea aguda según su asociación a agentes etiológicos. Servicio de Emergencia de la Policlínica Metropolitana. Caracas, Venezuela.

Factor	O.R.	p	c2	p
Parásitos enteropatógenos	0,4540	0,5009	0,638	0,490
Rotavirus	1,0000	1,0000	0,000	1,000
Adenovirus	0,0028	0,7914	0,722	0,396
Bacterias enteropatógenas	2,7777	0,0709	3,429	0,064

Discusión

Es sabido que la diarrea constituye un problema de salud pública en el mundo, especialmente en los países en desarrollo donde representa una importante causa de morbimortalidad en niños menores de 5 años.

Múltiples episodios de diarrea en el primer año de vida pueden deteriorar en forma importante el estado nutricional del individuo y dejar serias secuelas. En Asia, África y América Latina anualmente mueren aproximadamente 3,3 millones de niños menores de 5 años, y ocurren más de mil millones de episodios (1,3). En Venezuela se estima que ocurren 2,2 episodios de diarrea por niño y año, cifra similar a la registrada en el mundo: 2,5 episodios por niño y año. Su etiología no está bien determinada en el país debido a que los datos que se registran en las estadísticas nacionales solo corresponden al número de casos clínicos y grupos etareos afectados. Considerando que la mayoría de las diarreas infecciosas en la edad pediátrica son de etiología viral, muchos son los estudios que demuestran la importancia de Rotavirus como causa de diarrea y deshidratación durante los dos primeros años de vida. Sin embargo, investigaciones recientes aportan evidencias que sugieren fuertemente que Norovirus podría ser causa importante de diarrea aguda en nuestros niños. En base a estos hallazgos y considerando que numerosos casos de diarrea en el país quedan sin diagnosticar, sería lógico pensar que Norovirus circularía con una alta frecuencia en Venezuela. En nuestro estudio, realizado en la ciudad de Caracas, se evaluó la presencia de este agente viral en una población de niños afectados con diarrea aguda, obteniéndose una prevalencia de 39,2%; siendo superior a la reportada por otros autores en otras poblaciones, donde la prevalencia oscila entre un 5 y un 33% (10,11).

En el 56,5% de los casos positivos se identificó Norovirus como único agente etiológico, mientras que en otro 30,4% de los casos se obtuvo una coinfección con otros patógenos, aunque en ninguno de ellos la asociación fue estadísticamente significativa (p>0,05). Debido a la significancia estadística obtenida (x2 3,429 p: 0,064) y al número de pacientes evaluados, sería interesante realizar estudios posteriores con mayor número de casos que permitiera obtener más información de la asociación de Norovirus con bacterias enteropatógenas. Aún cuando la proporción de individuos varones fue ligeramente superior a la de las hembras, no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas respecto al sexo (x2 2,002 p: 0,157). La edad representó el único factor determinante en la prevalencia de Norovirus como agente etiológico de diarrea aguda, lo cual ha sido demostrado con anterioridad tanto a nivel nacional como internacional (2,5). La mayor incidencia fue observada en el grupo etareo de 1 a 2 años, con diferencias estadísticamente significativas respecto a los otros grupos (O.R 5,8842 p: 0,0070; x2 10,879 p: 0,012). Nuestros resultados demuestran que el riesgo de diarrea por Norovirus casi se sextuplica en este grupo de niños, tal como lo refieren diversos autores para otras poblaciones (12).

Las características epidemiológicas de la diarrea aguda presentan una gran variabilidad regional particularmente acentuada entre los países en desarrollo y desarrollados, debido a que están relacionadas con las condiciones de vida de la población. Sin embargo, según los resultados obtenidos en nuestra investigación se podría afirmar que las cepas de Norovirus detectadas en el país parecen ser de circulación universal.

Aunado a ello, nuestros resultados coinciden con los obtenidos para otras poblaciones. Teniendo en cuenta que la detección y caracterización de estos agentes se ve complicada por la alta variabilidad genética que presentan, es probable que esto explique el porcentaje de muestras indeterminadas obtenidas, ya que podrían tratarse de otras variantes diferentes al genogrupo I y II. Lo que sí queda claro a través de este estudio es la existencia

y circulación del virus en nuestro medio y por tanto la importancia de su investigación en la etiopatogenia de la gastroenteritis.

Conclusiones

Los resultados de nuestra investigación arrojaron una prevalencia de Norovirus de 39,2%, lo cual demuestra que estos agentes virales circulan en el país. Cerca de la mitad de los casos de diarrea que ocurren en Venezuela queda sin ser diagnosticado, es probable que estos virus sean responsables de un porcentaje significativo de ellos.

El impacto de las infecciones por Norovirus como agentes etiológicos de gastroenteritis en Venezuela se desconoce completamente y debe ser estudiado con mayor profundidad.

Referencias

1. Shaw RD et al. Viral infections of the gastrointestinal tract. Curr Opin Gastr. 1999. 15:53-64.
2. Urrestarazu M.I, y col. Características etiológicas, clínicas y sociodemográficas de la diarrea aguda en Venezuela. Rev. Panam. de Salud Pública 1999. 6: 149-156.
3. Venezuela, Ministerio de Sanidad y Asistencia Social. Principales causas de muerte en Venezuela, 1986-1990. Caracas: Dirección de Planificación y Estadística; 1994.
4. Kapikian A.Z. Norwalk-like Viruses. In Viral Infections of the Gastrointestinal Tract. 1994. 471-518.
5. Pang X.L, Joensuu T. Human calicivirus associated sporadic gastroenteritis in Finnish children less than two years of age followed prospectively during a rotavirus vaccine trial. Pediatr. Infect. Dis. 1999. 18: 420-426.
6. Glass R,et al.The changing epidemiology of Astrovirus associated gastroenteritis.Arch.Virol.1996. Sup.12: 287-300.
7. Rodríguez M. Parásitos intestinales. Métodos de diagnóstico. MSDS. Dirección general de salud ambiental y contraloría sanitaria. Escuela de Malariología "Dr. Arnoldo Gabaldón". División de Post-grado.
8. Lennette E, et al. Manual of Clinical Microbiology. 4ta ed. American Society for Microbiology; 1985.
9. RIDA®Quick Rotavirus/Adenovirus Combi (N 1002). r-biopharm.
10. Koopmans M, et al. Molecular epidemiology of human enteric calicivruses in the Netherlands. J Infect Dis 2000; 181 (suppl 2):S262-9.
11. Phan TG, et al. Viral diarrhea in Japanese children: results from a one-year epidemiologic study. Clin Lab. 2005; 51(3-4):183-91.
12. Fretz R, et al. Frequency of Norovirus in stool samples from patients with gastrointestinal symptoms in Switzerland. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2005 Mar; 24(3):214-6.